

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

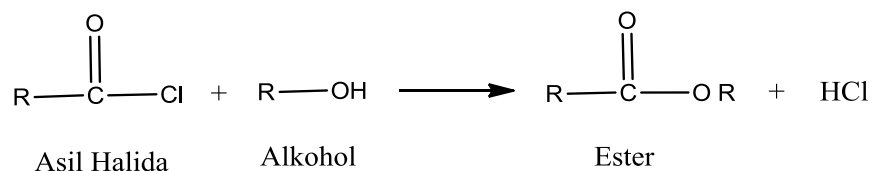
2.1 Tinjauan Modifikasi Molekul

Modifikasi struktur molekul senyawa yang telah diketahui aktivitas biologisnya merupakan salah satu strategi dalam pengembangan obat. Modifikasi molekul merupakan metode yang digunakan untuk mendapatkan obat baru dengan aktivitas yang dikehendaki, antara lain yaitu meningkatkan aktivitas obat, menurunkan efek samping atau toksisitas, meningkatkan selektivitas obat, memperpanjang masa kerja obat, meningkatkan kenyamanan penggunaan obat dan meningkatkan aspek ekonomis obat. Modifikasi struktur dari senyawa turunan asam salisilat dilakukan dengan mengubah gugus karboksil melalui pembentukan garam, ester, atau amida; modifikasi pada gugus karboksil dan hidroksil; substitusi pada gugus hidroksil; memasukkan gugus hidroksil atau gugus yang lain pada cincin aromatik atau dengan mengubah gugus fungsional (Siswandono dan Soekardjo, 2000).

Reaksi esterifikasi merupakan reaksi pembentukan ester yang terjadi jika asam karboksilat dipanaskan bersama alkohol primer atau sekunder dengan sedikit asam mineral sebagai katalis. Reaksi ini merupakan reaksi asam karboksilat dengan alkohol atau fenol untuk menghasilkan ester (Stoker, 2012). Reaksi esterifikasi dapat dilangsungkan dengan katalis asam dan bersifat *reversible* (Fessenden & Fessenden, 1997). Katalis yang dapat digunakan yaitu asam sulfat dan asam klorida. Faktor-faktor yang mempengaruhi reaksi esterifikasi antara lain waktu reaksi, pengadukan, katalisator, temperatur reaksi, dan perbandingan reaktan (Chasana dkk, 2014).

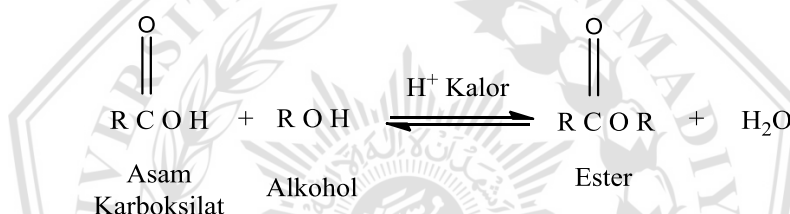
Metode esterifikasi dibagi menjadi dua yaitu cara fischer dan asil halida. Asil halida merupakan turunan asam karboksilat yang paling reaktif. Asil halida bereaksi dengan air menghasilkan asam karboksilat. Reaksi hidrolisis ini merupakan proses substitusi asil nukleofilik dan diawali oleh serangan air pada gugus karbonil asil halida. Reaksi antara asil halida dan alkohol adalah analog

reaksi asil halida dan air. Reaksi ini merupakan metode yang sangat baik untuk pembuatan ester (Elena, 2016).



Gambar 2.1 Reaksi Esterifikasi Asil Halida

Esterifikasi fischer adalah jika asam karboksilat dan alkohol dan katalis asam (biasanya HCl atau H₂SO₄) dipanaskan, terdapat kesetimbangan dengan ester dan air. Berikut ini merupakan gambar penjelasan dari esterifikasi fischer.



Gambar 2.2 Reaksi Esterifikasi Fischer

2.2 Tinjauan Nyeri

The International Study of Pain mendefinisikan nyeri sebagai perasaan sensorik dan emosional tidak menyenangkan yang dihubungkan dengan kerusakan jaringan yang telah atau akan terjadi atau digambarkan seperti mengalami kerusakan jaringan. Nyeri bersifat subyektif karena ambang nyeri setiap individu berbeda-beda. Ambang nyeri akan turun pada saat kita merasa lelah, cemas, sedih, marah, depresi, bosan, takut, dan terisolasi. Keadaan tidur, istirahat, rasa empati, diversi, dan pengertian akan meningkatkan ambang nyeri (Farastuti dan Windiastuti, 2005).

Rangsang nyeri dapat diterima oleh reseptor nyeri khusus, yang merupakan ujung saraf bebas. Reseptor nyeri yang dimaksud adalah nosiseptor. Reseptor ini tersebar luas pada permukaan superfisial kulit dan juga di jaringan dalam tertentu, misalnya dinding arteri, permukaan sendi, dan tentorium

tempurung kepala. Tiga jenis stimulus yang merangsang reseptor nyeri adalah mekanis, suhu, dan kimiawi. Beberapa zat kimia yang merangsang jenis nyeri kimiawi adalah bradikinin, serotonin, histamin, ion kalium, asam, asetilkolin, dan enzim proteolitik. Selain itu, prostaglandin dan substansi P meningkatkan sensitivitas ujung-ujung serabut nyeri tetapi tidak secara langsung merangsangnya (Guyton, 2007).

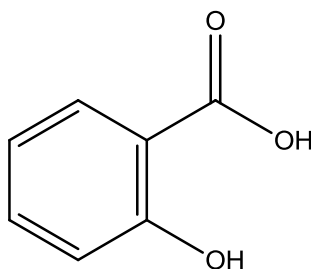
2.3 Tinjauan Analgesik

Analgesik adalah senyawa yang dapat menekan fungsi sistem saraf pusat secara selektif, digunakan untuk mengurangi rasa sakit tanpa mempengaruhi kesadaran. Analgesik bekerja dengan meningkatkan nilai ambang persepsi rasa sakit. Berdasarkan mekanisme kerja pada tingkat molekul, analgesik dibagi menjadi dua golongan yaitu analgesik narkotik dan analgesik non narkotik (Purwanto dan Susilowati, 2000).

2.3.1 Tinjauan Analgesik Non Narkotik

Analgesik non narkotik digunakan untuk mengurangi rasa sakit yang ringan sampai moderat, sehingga sering disebut analgesik ringan, juga untuk menurunkan suhu badan pada keadaan panas badan yang tinggi dan sebagai antiradang untuk pengobatan rematik. Analgesik non narkotik bekerja pada perifer dan sentral sistem saraf pusat. Obat golongan ini mengadakan potensiasi dengan obat-obat penekan sistem saraf pusat. Analgesik non narkotik menimbulkan efek analgesik dengan cara menghambat secara langsung dan selektif enzim-enzim pada sistem saraf pusat yang mengkatalisis biosintesis prostaglandin, seperti siklooksigenase, sehingga mencegah sensitisasi reseptor rasa sakit oleh mediator-mediator rasa sakit, seperti bradikinin, histamin, serotonin, prostaglandin, ion-ion hidrogen dan kalium, yang dapat merangsang rasa sakit secara mekanis atau kimiawi. Berdasarkan struktur kimianya analgesik non narkotik dibagi menjadi dua kelompok yaitu analgesik-antipiretik dan obat antiradang bukan steroid (*Non Steroidal Antiinflammatory Drugs* = NSAID) (Purwanto dan Susilowati, 2000).

2.4 Tinjauan Asam Salisilat



Gambar 2.3 Struktur Kimia Asam Salisilat

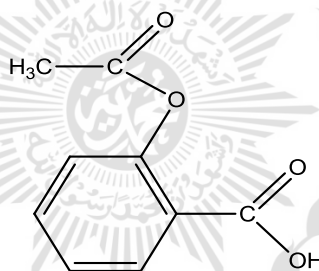
Asam salisilat seperti pada gambar 2.3 mempunyai aktivitas analgesik-antipiretik dan antirematik, tetapi tidak digunakan secara oral karena terlalu toksik. Oleh karena itu, yang banyak digunakan sebagai analgesik-antipiretik adalah senyawa turunannya. Turunan asam salisilat digunakan untuk mengurangi rasa sakit pada nyeri kepala, sakit otot dan sakit yang berhubungan dengan rematik. Turunan asam salisilat menimbulkan efek samping iritasi lambung. Iritasi lambung yang akut kemungkinan berhubungan dengan gugus karboksilat yang bersifat asam, sedang iritasi kronik kemungkinan disebabkan oleh penghambatan pembentukan prostaglandin E_1 dan E_2 , yaitu suatu senyawa yang dapat meningkatkan vasodilatasi mukosa lambung, sehingga terjadi peningkatan sekresi asam lambung dan vasokonstriksi mukosa lambung, yang menyebabkan nekrosis iskemik dan kerusakan mukosa lambung (Purwanto dan Susilowati, 2000).

Beberapa derivat asam salisilat telah disintesis untuk penggunaan sistemik. Terdapat dua kelas besar, yaitu ester dari asam salisilat yang didapat dari substitusi pada gugus karboksil dan ester salisilat dari asam organik, yang tetap memiliki gugus karboksil dan substitusi pada gugus hidroksil. Sebagai contoh, aspirin adalah ester dari asam asetat (Goodman & Gilman, 2010).

2.5 Tinjauan Aspirin

Aspirin (*acetyl salicylic acid*) yang termasuk dalam golongan salisilat merupakan salah satu jenis *non steroidal anti-inflammatory drugs* (NSAID) yang banyak digunakan pada pengobatan nyeri ringan sampai sedang (Mustaba dkk, 2012). Aspirin seperti pada gambar 2.4 berbeda dengan derivat asam salisilat

lainnya karena mempunyai gugus asetil. Gugus asetil inilah yang nantinya mampu menginaktivasi enzim siklooksigenase, sehingga obat ini dikenal sebagai NSAID yang unik karena penghambatannya terhadap enzim siklooksigenase bersifat ireversibel. Efektivitas penggunaan aspirin adalah berdasarkan kemampuannya menghambat enzim siklooksigenase (*cyclooxygenase/COX*), yang mengkatalisis perubahan asam arakidonat menjadi prostaglandin H₂, prostaglandin E₂, dan tromboksan A₂. Mekanisme kerja aspirin terutama adalah penghambatan sintesis prostaglandin E₂ dan tromboksan A₂. Akibat penghambatan ini, maka ada tiga aksi utama dari aspirin, yaitu: (1) antiinflamasi, karena penurunan sintesis prostaglandin proinflamasi, (2) analgesik, karena penurunan prostaglandin E₂ akan menyebabkan penurunan sensitisasi akhiran saraf nosiseptif terhadap mediator proinflamasi, dan (3) antipiretik, karena penurunan prostaglandin E₂ yang bertanggung jawab terhadap peningkatan *set point* pengaturan suhu di hipotalamus (Miladiyah, 2012).

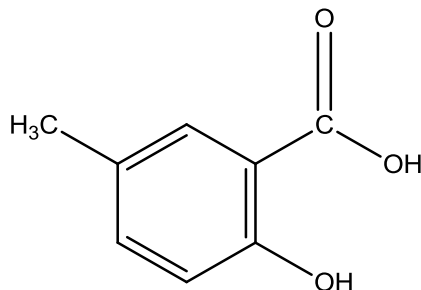


Gambar 2.4 Struktur Kimia Aspirin

2.6 Tinjauan Bahan Sintesis

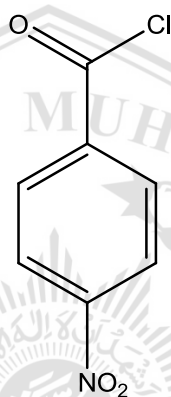
2.6.1 Tinjauan Senyawa Asam 5-Metilsalisilat

Dengan adanya gugus metil pada posisi 5 pada asam salisilat seperti pada gambar 2.5, dapat meningkatkan kelarutan dalam membran karena asam 5-metilsalisilat menjadi senyawa yang bersifat lipofilik dan gugus metil bersifat elektronegatif. Struktur kimia dari asam 5-metilsalisilat adalah C₈H₈O₃, dengan titik didih 640,43 dan titik leleh 490,68 (Cambridgesoft, 2012).



Gambar 2.5 Struktur Kimia Asam 5-Metilsalisilat

2.6.2 Tinjauan Senyawa 4-Nitrobenzoil Klorida



Gambar 2.6 Struktur Kimia 4-Nitrobenzoil Klorida

4-nitrobenzoil klorida adalah turunan asam benzoat, dimana adanya penambahan gugus nitro pada aril halida. 4-nitrobenzoil klorida memiliki struktur kimia $C_7H_4ClNO_3$, berat molekul 185,56 g/mol, berat jenis 1,53 g/ml, dan titik lebur 71-74°C (Cambridgesoft, 2012).

2.7 Tinjauan Kemurnian Senyawa Hasil Sintesis

2.7.1 Tinjauan Titik Lebur

Titik lebur merupakan salah satu sifat fisik yang penting untuk karakterisasi suatu senyawa. Titik lebur biasanya didefinisikan sebagai titik di mana material berubah dari padatan menjadi cairan. Senyawa murni memiliki titik lebur yang tajam dan terdefinisi dengan baik (O'Brien, 2009). Kemurnian suatu senyawa kompleks dapat diketahui melalui penentuan titik lebur. Penentuan titik

lebur digunakan untuk memastikan bahwa senyawa yang dihasilkan adalah senyawa baru, bukan ligan ataupun garamnya (Pramitasari dkk, 2013).

2.7.2 Tinjauan Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) adalah metode kromatografi paling sederhana yang banyak digunakan. Peralatan dan bahan yang dibutuhkan untuk melaksanakan pemisahan dan analisis sampel dengan metode KLT cukup sederhana yaitu sebuah bejana tertutup (*chamber*) yang berisi pelarut dan lempeng KLT (Wulandari, 2011).

Pelaksanaan analisis dengan KLT diawali dengan menotolkan sampel pada salah satu ujung fase diam (lempeng KLT), untuk membentuk zona awal. Kemudian sampel dikeringkan. Ujung fase diam yang terdapat zona awal dicelupkan ke dalam fase gerak (pelarut tunggal ataupun campuran dua sampai empat pelarut murni) di dalam chamber. Jika fase diam dan fase gerak dipilih dengan benar, campuran komponen-komponen sampel bermigrasi dengan kecepatan yang berbeda selama pergerakan fase gerak melalui fase diam. Hal ini disebut dengan pengembangan kromatogram. Ketika fase gerak telah bergerak sampai jarak yang diinginkan, fase diam diambil dan zona yang dihasilkan dideteksi secara langsung (visual) atau di bawah sinar ultraviolet (UV) baik dengan atau tanpa penambahan pereaksi penampak noda yang cocok (Wulandari, 2011).

Perbandingan seberapa jauh sebuah komponen dalam sampel bergerak dibagi dengan jarak pergerakan pelarut disebut faktor retensi atau nilai R_f .

$$R_f = \frac{B}{A}$$

Keterangan : A = Jarak tempuh pelarut

B = Jarak tempuh senyawa

Dua senyawa yang berbeda mungkin saja memiliki nilai R_f yang sama. Dalam kondisi ini, campuran tiga senyawa dapat menampilkan hanya dua bahan (dua nilai R_f). Mengubah komposisi pelarut merupakan suatu cara memisahkan nilai R_f

jika dua bahan yang berbeda kebetulan memiliki nilai R_f yang sama dalam satu sistem pelarut (Bloch, 2013).

2.8 Tinjauan Identifikasi Struktur Senyawa Hasil Sintesis

2.8.1 Tinjauan Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri ultraviolet membangkitkan radiasi elektromagnetik di daerah 200 sampai 400 nm. Pada spektrofotometri ultraviolet, sampel dilarutkan dalam pelarut dan dimasukkan dalam sebuah sel yang tidak menyerap pada daerah ultraviolet yang digunakan. Selain itu, digunakan sel pembanding yang hanya berisi pelarut (Bloch, 2013).

Saat molekul suatu atom menyerap cahaya energi tersebut akan menyebabkan tereksitasinya elektron pada kulit terluar ke tingkat energi yang lebih tinggi, tipe eksitasi tergantung pada panjang gelombang cahaya yang diserap. Sinar ultraviolet dan sinar tampak akan menyebabkan elektron tereksitasi ke orbital yang lebih tinggi. Sistem yang bertanggung jawab terhadap absorpsi cahaya dan gugus tak jenuh (pada ikatan kovalen) yang bertanggung jawab terhadap terjadinya absorpsi elektronik disebut dengan kromofor (misalnya $C=C$, $C=O$, dan NO_2). Pergeseran absorban ke daerah panjang gelombang yang lebih panjang karena adanya substitusi (efek pelarut) disebut dengan pergeseran batokromik dan sebaliknya pergeseran absorban ke daerah panjang gelombang yang lebih pendek karena adanya substitusi atau efek pelarut disebut dengan pergeseran hipsokromik. Suatu peningkatan intensitas absorban dapat dikatakan efek hiperkromik dan suatu penurunan intensitas absorban dapat disebut efek hipokromik (Dachriyanus, 2004).

2.8.2 Tinjauan Spektrofotometri IR

Spektrofotometri inframerah (IR) mengukur interaksi (serapan) radiasi inframerah dengan molekul. Ikatan-ikatan antar atom umumnya dinyatakan sebagai panjang spesifik. Ikatan antara dua atom juga dinyatakan memiliki sifat seperti sebuah pegas. Ikatan (pegas) bervibrasi dan jarak rata-rata antara kedua atom yang dihubungkan (dalam keadaan dasar pada energi terendahnya)

dinyatakan sebagai panjang ikatan. Ikatan bervibrasi dengan frekuensi yang khas untuk ikatan yang spesifik tersebut. Ikatan C-H, C-C, dan C=C memiliki frekuensi vibrasi yang berbeda. Molekul dapat menyerap radiasi elektromagnetik jika frekuensi vibrasi ikatan cocok dengan frekuensi radiasi elektromagnetik. Radiasi dalam rentang spektrofotometri inframerah biasanya dinyatakan dalam satuan bilangan gelombang (ν). Rentang bilangan gelombang spektrum inframerah adalah 400 sampai 4000 cm^{-1} . Bilangan gelombang yang semakin besar menyatakan energi yang lebih besar (Bloch, 2013).

2.8.3 Tinjauan Spektrometri ^1H -NMR

Spektroskopi ^1H -NMR adalah spektroskopi NMR proton. Definisi proton adalah atom hidrogen tanpa elektron, H^+ . NMR proton mempelajari atom-atom hidrogen yang berikatan secara kovalen dengan atom lain, biasanya karbon. NMR dapat bermanfaat sebagai alat diagnostik jika atom hidrogen (proton) dalam lingkungan yang berbeda menyerap (meresonansikan) gelombang radio pada frekuensi yang berbeda. Inti sebuah atom hidrogen dikelilingi oleh awan elektron (densitas elektron) dan elektron-elektron ikatannya. Medan magnet eksternal menghasilkan sebuah gaya (gaya putar) pada elektron-elektron itu sehingga elektron-elektron itu menciptakan suatu medan magnet, H_{lokal} , yang berlawanan dengan medan magnet eksternal (Bloch, 2013).

2.9 Tinjauan Metode Pengujian Aktivitas Analgesik

Metode-metode pengujian aktivitas analgesik bertujuan untuk menentukan secara reproduibel suatu zat uji terhadap ambang nyeri dengan mengukur respon refleksnya terhadap rangsangan panas, tekanan, listrik, dan kimia. Metode yang dapat digunakan adalah metode stimulasi panas, metode stimulasi tekanan, metode stimulasi listrik, dan metode stimulasi kimiawi (Costa, 2016).

2.9.1 Tinjauan Metode Stimulasi Panas (*Hot Plate*)

Nyeri merupakan suatu tanda adanya suatu kerusakan jaringan. Kerusakan jaringan dapat disebabkan oleh panas. Panas merupakan salah satu faktor perusak jaringan yang mengakibatkan rilis prostaglandin, suatu mediator

nyeri. Nyeri pada kulit dapat terjadi pada temperatur $\geq 45^{\circ}\text{C}$, yang merupakan suhu dimana terjadi denaturasi protein seluler. Produk denaturasi akan merangsang terjadinya impuls pada saraf, yang berakibat terjadi perubahan nyeri pada ujung saraf. Pusat pengaturan suhu tubuh ada di hipotalamus, yang merupakan bagian susunan syaraf pusat. Telapak kaki mencit atau tikus merupakan bagian yang tidak ditumbuhi bulu dan relatif peka terhadap rangsangan nyeri, baik termis maupun mekanik (Lucia, 2008).

Metode stimulasi panas menggunakan alat *hot plate*. Pada bagian dasar alat *hot plate* merupakan pelat panas untuk stimulasi nyeri. Suhu *hot plate* yang digunakan adalah $55^{\circ}\pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Waktu yang diukur adalah interval waktu saat mencit diletakkan diatas *plate* sampai mencit menimbulkan respon mengangkat atau menjilat telapak kaki depan, diukur menggunakan stopwatch sebelum dan sesudah perlakuan (Widiandani dkk, 2013).

2.9.2 Tinjauan Metode Stimulasi Tekanan (*Tail Flick*)

Stimulasi panas atau termal dapat mengakibatkan kerusakan jaringan. Ekor tikus terdiri dari kumpulan saraf yang meneruskan impulsnya ke sistem saraf sentral. Stimulasi pada ekor tikus dapat menimbulkan stimulus pada reseptor dengan gejala terjadi jentik ekor. Penggunaan obat analgesik dapat meningkatkan nilai ambang nyeri pada interaksinya dengan reseptor. Pada eksperimen ini ujung ekor tikus diinduksi dengan kawat panas sebagai stimulasi kerusakan jaringan. Efek nyeri akan terlihat bahwa tikus akan menjentikkan ekornya. Alat yang digunakan pada metode ini adalah alat deteksi jentik ekor atau *Tail flick* (Lucia, 2008). Pengamatan dilakukan dengan interval waktu tertentu untuk tiap-tiap hewan coba waktu responnya dicatat sebagai waktu respon ekor terhadap pemaparan panas sesudah pemberian obat. Selisih waktu pemaparan panas sesudah dan sebelum pemberian obat menunjukkan adanya efek analgesik obat (Widiarti dkk, 2012).

2.9.3 Tinjauan Metode Stimulasi Listrik

Metode ini telah digunakan untuk menimbulkan rasa nyeri. Prinsip kerja metode ini adalah ekor hewan diletakkan pada tempat yang dapat dialiri listrik,

kemudian diberi aliran listrik. Rangsang nyeri didasarkan pada gerakan tersentak dan melompat. Efek analgesik dinyatakan sebagai selisih tegangan yang didapat antara hewan uji setelah pemberian obat dengan sebelum pemberian obat. Cara ini cocok diberikan untuk obat golongan analgesik non narkotik (Tuhu, 2008). Keuntungan dari metode stimulasi listrik dapat dikontrol dengan mudah dengan menggunakan stimulator arus listrik yang dipertahankan konstan walaupun terjadi fluktuasi daya tahan pada subjek, dapat digunakan dan diukur dengan mudah, dapat menghasilkan tingkatan-tingkatan sakit yang tinggi tanpa merusak jaringan, dapat diulang dengan interval yang sangat pendek, onsetnya cepat, dapat digunakan pada segala macam spesies (Costa, 2016).

2.9.4 Tinjauan Metode Stimulasi Kimia (*Writhing Test*)

Reflek geliat merupakan reflek nyeri pada mencit akibat substansi penginduksi nyeri. Dalam waktu 5 menit setelah diberi penginduksi nyeri, umumnya mencit mulai merasakan sakit. Hewan akan berdiam disuatu tempat, yang biasanya sudut ruangan, badannya ditekuk, umumnya bulunya berdiri dan ekornya diangkat. Setelah beberapa saat, hewan akan bergerak perlahan, menarik satu atau kedua kaki belakangnya, badannya direntangkan dan perutnya ditekan hingga menyentuh dasar. Gerakan ini seringkali disertai dengan gerakan kepala yang menoleh ke belakang, sehingga tampak seolah-olah mencit tersebut menggeliat. Reflex ini dapat terjadi selama masa durasi kerja penginduksi (Lucia, 2008). Senyawa penginduksi pada *writhing test* adalah larutan asam asetat 0,6%. Pengamatan pada metode ini adalah jumlah respon geliat mencit yang diberi senyawa uji pada dosis tertentu dibandingkan dengan mencit kelompok kontrol pada waktu tertentu. Penurunan jumlah respon geliat akibat perlakuan senyawa uji dibandingkan dengan kelompok kontrol (Ekowati dan Diyah, 2013).